Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 65-75

The Effect of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Blood Parameters, Production and Composition of Ewe's Milk in Late Pregnancy

Mehrangiz Abbasi[1], Hassan Aliarabi [2*]

Received: 08-02-2022
Revised: 11-10-2022
Accepted: 07-11-2022
Available Online: 07-11-2022

How to cite this article:
Abbasi, M., & Aliarabi, H. (2023). The effect of Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on blood parameters, production and composition of ewe's milk in late pregnanc. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 65-75. DOI: 10.22067/ijasr.2022.74963.1064

Introduction: Maternal stimuli, such as nutrition, result in developmental adaptations by the fetus which changes physiology and metabolism of offspring. In ewe energy level and source during gestation have been shown to impact lamb performance. Supplementation of fatty acids during gestation has been shown to affect offspring in dairy cattle and sheep. The omega-3 (n-3) fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) are particularly bioactive and can alter physiology and metabolism by increasing the transcription of lipolytic genes and decreasing the transcription of lipogenic genes, potentially increasing the utilization of fatty acids for energy, which yields more energy than other metabolizable nutrients. The bioactive properties of EPA and DHA allow them to affect offspring development through changes in metabolism in non-ruminant species. Therefore, we hypothesized that supplementation of EPA and DHA will alter metabolism of pregnant ewes, which in turn will modulate growth and metabolism of the offspring.

Antioxidants protect the body against free radicals that are responsible for causing more than 100 diseases. Among the most important natural antioxidants are retinol (vitamin A), carotenoids, tocopherol (vitamin E), ascorbic acid, butyric acid, EPA and DHA. Long-chain unsaturated fatty acids have high antioxidant power, as it is reported that EPA and DHA have the same antioxidant capacity as vitamins. It has also been reported that supplementation of EPA, DHA in the diet of dairy cows has increased the concentration of antioxidants in milk.

Materials and Methods: 45 ewes were selected while were in the last two months of pregnancy and randomly assigned to three treatments, including control (first treatment) second treatment which received EPA and DHA supplement and third treatment received a basal diet with one percent calcium fat supplement. Plasma samples were collected to measure glucose, triglycerides, cholesterol, total protein, albumin, globulin, urea nitrogen, non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate and antioxidants. The amount of milk production and milk composition were also determined.

Results and Discussion: There was a significant difference in birth weight between different treatments. In a study conducted on dairy cows in the last weeks of gestation with long-chain unsaturated fatty acids, the birth weight of calves born on long-chain unsaturated fatty acid supplementation was significantly different compared to other treatments. In another study, the birth weight of lambs whose mothers received fat supplement was not significantly different from the control group. Plasma concentrations of glucose, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate were significantly different between treatments. Supplementation of ewes in the last two months of pregnancy with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid fatty acids increased glucose and decreased non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate compared to other treatments, which releases fatty acids from the tissue to reduce energy balance to provide the energy needed for breastfeeding. In a study it was

1- PhD Student of Animal Nutrition, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- Professor of Animal Sciences Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
(*Corresponding Author: h_aliarabi@yahoo.com)

found that addition of trans fats to the diets of pregnant cows reduced glucose levels and increased NEFA, possibly due to increased circulating fat. There was no significant difference in the amount of blood metabolites such as triglycerides, cholesterol, total protein and urea between treatments.

Milk production in 3 hours showed a significant difference between treatments, as EPA and DHA supplemented group produced more milk than other groups, which can be attributed to the higher amount of blood glucose in this treatment. Experimental diets had no effect on the amount of protein, fat and total SNF of milk. It was also observed that consumption of 18 mg per kg metabolic body weight during pregnancy did not show any change in milk parameter.

The use of EPA and DHA supplements in the diet of pregnant ewes increased the total antioxidant capacity of milk and colostrum. Omega-3 fatty acids reduce the effect of free radicals. In this way, omega-3 fatty acids may increase the level of catalase in the peroxisomes and cytoplasm and, thus, improve the defense against free radicals.

Conclusion: The use of EPA and DHA supplementation in pregnant ewes caused significant changes in the birth weight of lambs, milk production and the amount of antioxidant production in milk and colostrum. It also altered glucose, non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in the plasma metabolite on lambing in ewes.

Keywords: Beta-hydroxy butyrate, Calcium fats, Non-esterified fatty acids

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱٤۰۲، ص ۷۵-٦٥

اثر ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر میش در اواخر آبستنی

مهرانگیز عباسی[۱]، حسن علی عربی[۲]*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶

چکیده

هدف بررسی مقایسه استفاده از مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید[۲] و دوکوزاهگزانوئیک اسید[۳] و چربی‌های کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون میش، میزان و ترکیبات شیر و وزن بره‌های متولد شده بود. از مهم‌ترین اثرات مکمل EPA,DHA در میش‌های آبستن افزایش وزن تولد بره و افزایش تولید شیر می‌باشد. بدین منظور ۴۵ رأس میش که قبلاً همزمان‌سازی شده بودند در دو ماه آخر آبستنی به سه گروه ۱۵ رأسی تقسیم شدند. تیمارها عبارت بودند از: ۱) شاهد فقط جیره پایه دریافت کرد، ۲) جیره پایه به همراه دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA (۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی)، ۳) دریافت‌کننده یک درصد از ماده خشک مکمل چربی کلسیمی به همراه جیره پایه. وزن تولد بره‌ها، فراسنجه‌های پلاسما در میش در روز زایش شامل گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، اوره، مجموع پروتئین کل، بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استریفیه اندازه‌گیری شدند. میزان تولید شیر در سه ساعت (جدا کردن سه ساعت میش از بره و اندازه‌گیری مقدار شیر) و ترکیبات شیر نیز بررسی گردید. وزن تولد در بره‌های دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA نسبت به تیمارهای دیگر به‌طور معنی‌دار بالاتر بود. مقدارگلوکز در خون میش‌های دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA در روز زایمان نسبت به دو گروه دیگر به‌طور معنی‌دار بیشتر بود و در مقابل، مقدار بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استرفیه کاهش معنی‌داری نشان داد و در دیگر متابولیت‌های پلاسما روز زایش میش (بعد از تولد بره) هیچ تغییری دیده نشده است. میزان تولید شیر در تیمارهای شاهد (بدون مکمل) و تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی نسبت به گروه دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA به‌صورت معنی‌دار کمتر بود. در ترکیبات شیر تولیدی بین تیمارهای مختلف هیچ تفاوتی دیده نشد. به‌طور کلی، دریافت حدود ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولکی میش از مجموع EPA,DHA در دو ماه آخر آبستنی باعث بهبود وزن تولد بره، کاهش تولید بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیر استرفیه در هنگام زایمان در میش و افزایش شیر تولیدی شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب غیر استرفیه، بتاهیدروکسی بوتیرات، چربی‌های کلسیمی

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- استاد، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: h_aliarabi@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.74963.1064

۲- Eicosapentaenoic acid) EPA)
۳- Docosahexaenoic acid(DHA)

مقدمه

مطالعات انجام شده در دام آبستن نشان داده شده است که اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر در بهبود عملکرد دام متولد شده مؤثر هستند(Nickles, Hamer, Coleman, & Relling, 2019). تغذیه در اوخر دوران آبستنی برای رشد کافی داخل رحمی اهمیت دارد و بر فیزیولوژی، سلامت و متابولیسم فرزندان تأثیر به‌سزایی می‌گذارد (Reynolds, Cannon, & Loerch, 2006). اسیدهای چرب نقش مهمی در رشد جنین، بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپید و متابولیسم انرژی در پستانداران ایفا می‌کنند(Palmquist, McClure, & Parker, 1977)

یکی از منابع مهم در تغذیه دام چربی‌ها می‌باشند که در این بین، اسیدهای چرب به‌عنوان منبع انرژی، نسبت به سایر مواد مغذی قابل متابولیسم انرژی بیشتری تولید می‌کنند(Clarke, 2001) و در بین اسیدهای چرب امگا ۳ ایکوزاپنتانوییک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) نه تنها تولید انرژی می‌کنند، بلکه بیواکتیو بوده و می‌توانند با افزایش رونویسی ژن‌های تجزیه‌کننده چربی (لیپولپتیک) و کاهش رونویسی ژن‌های دخیل در ساخت چربی (لیپوژنیک)، فیزیولوژی و متابولیسم انرژی را تغییر دهند (Clarke, 2001). همچنین این دو اسید چرب به‌دلیل خاصیت ضدالتهابی برای سلامت پستانداران مفید می‌باشند(Farina et al., 2015). گزارش شده است، استفاده از مکمل اسیدهای چرب امگا سه در دوران آبستنی در خوک (Tanghe & De Smet, 2013) و گاو شیری تأثیر مثبت بر دام‌های متولد شده داشته است (Gallardo et al., 2014; Garcia et al., 2014). همچنین نتایج آزمایشات نشان داده‌اند که تغذیه مناسب میش در دوران آبستنی منجر به سازگاری رشد جنین می‌شود که فیزیولوژی و متابولیسم بره‌ها را تغییر می‌دهد (Peñagaricano, Wang, Rosa, Radunz, & Khatib, 2014; Roque-Jiménez et al., 2021). طبق تحقیقات صورت گرفته در گوسفندان سطح و منبع انرژی در دوران آبستنی بر عملکرد بره‌ها تأثیر می‌گذارد(A. Relling & Reynolds, 2007; Reynolds et al., 2006) ، ترکیب جیره با EPA و DHA در دوران آبستنی میش باعث تأثیر مثبت بر تولید شیر و رشد بره‌ها بوده است (J. Capper, Wilkinson, Mackenzie, & Sinclair, 2007; J. L. Capper, Wilkinson, Mackenzie, & Sinclair, 2006).

آنتی‌اکسیدانت‌ها به دفاع از بدن در برابر رادیکال‌های آزاد که مسئول ایجاد بیش از ۱۰۰ بیماری هستند، کمک می‌کنند. از جمله مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توان به رتینول (ویتامین A)، کاروتنوئیدها، توکوفرول (ویتامین E)، اسید آسکوربیک، اسید بوتیریک، EPA و DHA اشاره کرد(Puppel et al., 2012). ترکیبات اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر، دارای قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالایی هستند(Puppel et al., 2012) به‌طوری‌که مطالعات نشان دادند که EPA,DHA ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی برابری نسبت به ویتامین‌ها دارند (Puppel et al., 2016). همچنین گزارش شده است که افزودن مکمل EPA,DHA در جیره گاوهای شیری منجر به افزایش غلظت آنتی‌اکسیدانت در شیر شده است، در تحقیقی مشابه، استفاده از روغن ماهی و جلبک دریایی در جیره گاوهای شیری باعث افزایش غلظت آنتی‌اکسیدانت در پلاسما و شیر شد(Puppel et al., 2016).

مدیریت تغذیه در یک سوم آخر آبستنی بر عملکرد بره و پاسخ‌های فیزیولوژیکی از طریق اثرات برنامه‌ریزی جنین تأثیر خواهد گذاشت، در یک سوم آخر آبستنی زمانی که افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر در گردش خون جنین رخ می‌دهد، در نتیجه تغذیه مادر در اواخر آبستنی تأثیر مستقیمی بر رشد داخل رحمی جنین خواهد داشت(Roque-Jiménez et al., 2021).

لذا با توجه به اثرات مثبت EPA و DHA بر رشد و تکامل جنین، عدم اطلاع از تأثیر این دو اسید چرب بر وزن تولد بره در نژادهای ایرانی، پایین بودن مقدار تولید شیر در میش‌های نژاد مهربان مطالعه حاضر طراحی و اجرا شد تا اثرات استفاده از این دو اسید چرب بیواکتیو در جیره میش در اواخر آبستنی بر وزن تولد، تغییرات متابولیکی و تولید و ترکیب شیر بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی دامپروری گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. بدین منظور ۶۰ رأس میش دو ساله نژاد مهربان با دامنه وزن(۳± ۶۳) در ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۸ اسفنج‌گذاری شد و در ۲۹ اسفند بعد از گذشت ۱۴ روز تزریق هورمون پروژسترون و قوچ‌اندازی با قوچ مهربان انجام شد. تغذیه و نگهداری میش‌های آبستن تا قبل از شروع طرح به‌صورت گروهی و به‌صورت چرای در مرتع بود، قبل از شروع طرح دام‌ها سونوگرافی با دستگاه سونوگرافی مخصوص دام سبک (importvet) با فرکانس ۳/۵ مگاهرتز از آبستنی دام‌ها اطمینان حاصل شد. در دو ماه انتهای دوره آبستنی ۴۵ رأس میش آبستن انتخاب شدند و به‌طور تصادفی در سه تیمار با ۱۵ تکرار قرار داده شدند. تیمار اول جیره پایه (جدول ۱) بدون هیچ‌گونه مکملی را دریافت کردند. تیمار دوم با جیره پایه به همراه مکمل (اپتیمیت از شرکت گلبار نوید بهار) به‌میزان یک درصد از ماده خشک به‌میزان دریافت ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی میش (EPA و DHA) تغذیه شدند. مقدار مکمل EPA,DHA محاسبه و با جیره پایه ترکیب شد. تیمار سوم خوراک پایه به همراه یک درصد ماده خشک خوراک مکمل چربی کلسیمی پرشیا فت دریافت کردند. پروفایل اسیدهای چرب مکمل‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

گوسفندان به‌صورت انفرادی نگهداری و تغذیه می‌شدند. جهت بررسی وزن تولد، همه‌ی بره‌ها در روز تولد وزن شدند. از تمامی میش‌ها

در روز زایش از ورید وداج خون‌گیری انجام شد. پلاسمای نمونه‌ها خون گرفته شده تا زمان اندازه‌گیری پارمترهای مورد بررسی در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از پلاسمای نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، نیتروژن اوره‌ای و آنتی اکسیدانت استفاده شد. میزان گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و با دستگاه اتو آنالایزر انجام شد.

همچنین مقدار اسیدهای چرب غیر استریفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات با روش آنزیمی از طریق کیت‌های اختصاصی (UK, Randox) برآورد شد. برای اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی پلاسما خون، آغوز و شیر از روش مرسوم به FRAP (توان احیاکنندگی آهن فریک پلاسما) استفاده شد (Benzie & Strain, 1996). ۱۰ روز پس از زایش ابتدا تمامی بره‌ها توزین گردیدند و از مادران خود جدا شدند و پس از سه ساعت دوباره در کنار مادران خود قرار داده شدند و به‌مدت ۳۰ دقیقه در کنار مادران خود قرار گرفتند و دوباره وزن شدند، اختلاف وزن بره‌ها قبل و بعد از خوردن شیر تولیدی در سه ساعت مشخص شد (Ayar, Sert, & Akın, 2009). همچنین ترکیبات شیر با استفاده از دستگاه میلکواسکن (Milko Scan 133B, N.FOSS Electric.denmark; AOAC, 2002) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی در جیره پایه

Table 1- Ingredients and chemical composition of feeds in the basal diet

	اجزای جیره Diet components				جیره پایه Basal diet
	یونجه خشک Alfalfa (38%)	کاه گندم Wheat straw (25%)	دانه جو Barley (21%)	سبوس گندم Wheat bran (16%)	
ماده خشک (درصد) Dry matter (percentage)	92	92.3	89	90.2	91.15
ماده آلی (درصد ماده خشک) Organic matter (percentage of dry matter)	91.6	93.6	94.9	93.4	93.08
پروتئین خام (درصد ماده خشک) Crude protein (percentage of dry matter)	14.91	4.61	10.5	16	11.58
عصاره اتری (درصد ماده خشک) Ethere extract (percentage of dry matter)	1.78	1.8	1.6	1.82	1.75
ان-دی-اف (درصد ماده خشک) NDF (dry matter percentage)	50.4	57.8	20.7	49.3	45.83
ای-دی-اف (درصد ماده خشک) ADF (dry matter percentage)	36	50.23	7	11.53	29.55
خاکستر (درصد ماده خشک) Ash (percentage of dry matter)	8.4	7.02	5.1	6.6	7.07
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)[۱] Metabolizable energy (megacaloriey per kilogram) 1	2.1	1.5	3	2.5	2.20
کلسیم (درصد ماده خشک) Calcium (percentage of dry matter)	1.88	0.05	0.05	0.13	0.75
فسفر (درصد ماده خشک) Phosphorus (percentage of dry matter)	0.29	0.06	0.32	0.77	0.31

[۱] انرژی قابل متابولیسم مطابق با ان‌آرسی (۲۰۰۷) محاسبه شد.

[1] Metabolizable energy was calculated according to NRC (2007)

جدول ۲- پروفایل اسیدهای چرب مکمل‌های چربی

Table 2- Profile of fatty acids in the fat supplements

اسید چرب Fatty acid	پروفایل اسید چرب (درصد) Fatty acid profile (%) مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید (٪) EPA and DHA supplement	مکمل چربی کلسیمی (٪) Calcium fat supplement
C14:0	5.13	1
C16:0	15.19	28.2
C16:1 cis-9	4.215	3.123
C18:0	4.12	5.05
C18:1 cis-9	26.16	25.07
C18:2 n-6	8.08	29.45
C18:3 n-3	2.01	3.01
C18:4 n-3	3.18	0.51
20:0	0.24	0.13
20:5 n-3	4.69	0.05
22:5 n-3	0.99	0.2
22:6 n-3	4.201	0.1
سایر اسیدهای چرب	21.80	4.1

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و ۱۵ تکرار انجام شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۴) و رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. برای صفات مورد بررسی در میش‌ها و بره‌ها از یک مدل آماری استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

در این مدل، Y_{ij}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین صفت مورد مطالعه، T_i: اثر تیمار و e_{ij}: اثر خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به وزن تولد بره‌ها، جنسیت و تعداد بره در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می شود، اختلاف معنی‌داری (P<0.0001) در وزن تولد بین تیمارهای مختلف وجود داشت، به‌طوری‌که بره‌های متولد شده از تیمارهای دریافت‌کننده مکمل EPA و DHA نسبت به گروه شاهد و دریافت‌کننده چربی کلسیمی وزن تولد بیشتری داشتند، اختلاف وزن تولد بین تیمارها به‌طور میانگین ۱/۱۷ کیلوگرم بود. در مورد اثرات مکمل اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر در اواخر آبستنی میش نتایج متفاوتی گزارش شده است، به‌طوری‌که در مطالعه‌ای که در هشت هفته آخر آبستنی بر روی میش های تغذیه شده با مکمل ایکوزاپنتانوییک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید انجام شد، وزن تولد بره‌های آن‌ها با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (Coleman, Rivera-Acevedo, and Relling, 2018)، در مطالعه دیگری که در گاو شیری در هفته‌های آخر آبستنی انجام شد، وزن تولد گوساله‌ها تحت تأثیر مکمل اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر قرار گرفت (Garcia et al., 2014) روکوجیمز و همکاران (۲۰۲۱) (Roque-Jiménez et al., 2021) بیان کردند که در مراحل قبل از تولد اسیدهای چرب نقش مهمی در رشد و تمایز سلول بین محیط‌های متابولیک و غدد ایفا می‌کنند. به‌طوری‌که اسیدهای چرب به‌سیگنال‌های مولکولی که اشتها و متابولیسم انرژی را تنظیم کنند، کمک می کنند. علاوه‌براین اسیدهای چرب به‌عنوان حسگرهای متابولیکی در تنظیم ژن‌های درگیر در اکسیداسیون چربی و ذخیره انرژی شرکت می‌کنند، بنابراین تصور می شود دریافت کافی و متعادل اسیدهای چرب در مراحل آخر آبستنی بر رشد، نمو جنین و وزن تولد تأثیر بگذارد (Roque-Jiménez et al., 2021). همچنین گزارش شده است که اسیدهای چرب در فسفولیپیدهای غشایی نقش دارند و نقش مهمی در رشد و نمو قبل از تولد دارند (Kabaran and Besler, 2015). هر چند در برخی گزارشات بیان شده است که وزن تولد بره‌ها (Capper et al., 2006) و گوساله‌های (Puppel et al., 2012) متولد شده از مادرانی که مکمل چربی دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است.

جدول ۳- تأثیر مکمل چربی بر عملکرد تولید مثل
Table 3- Effect of fat supplementation on lamb birth

	تیمارهای آزمایش ۲ Experimental treatments			خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقدار احتمال P-Valu
	شاهد control	مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	مکمل چربی کلسیمی Fat calcium		
وزن تولد Birth weight	3.88[b]	5.04[a]	3.87[b]	0.0409	<0.0001
تعداد بره متولد شده Number of lambs born	16	15	15	-	-
تعداد بره نر متولد شده Number of male lambs	8	8	7	-	-
تعداد بره ماده متولد شده Number of female lambs	8	7	8	-	-
تعداد دوقلوزایی Number of twins	1	0	0	-	-

[۱] حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است.
[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA در دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.
[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference (P≤0.05).
[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

نتایج مربوط به متابولیت‌های پلاسـمای میش‌ها در روز زایش در جدول ۴ ارائه شده است. غلظت گلوکز، اسیدهای چرب غیر استرفیه و بتاهیدروکســی بوتیرات در پلاســما بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). بـه‌طوری کـه اســتفـاده از اســیـدهـای چرب ایکوزاپنتانوییک اسـید و دوکوزاهگزانوئیک اسـید باعث افزایش مقدار گلوکز نسـبت به دیگر تیمارها و به دنبال آن کاهش اسـیدهای چرب غیر استریفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات در مقایسه با تیمارهای دیگر گردید. در سـایر متابولیت‌های خون شـامل تری‌گلیسـرید، کلسـترول، پروتئین کل و اوره هیچ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها دیده نشــد. افزایش گلوکز و کاهش ســطح NEFA و بتاهیدروکســی‌بوتیرات مشاهده شده در تحقیق حاضر با نتایج افزودن چربی به جیره گاوهای آبستن که باعث افزایش سطح گلوکز خون و کاهش سطح NEFA و بتاهیدروکسی بوتیرات گردید، همخوانی داشت (Relling, Loerch, & Reynolds, 2010). در مقابل، در تحقیق دیگر مصرف چربی‌های عبوری در جیره گاوهای آبسـتن باعث کاهش سـطح گلوکز و افزایش NEFA گردید، که احتمالاً به‌دلیل افزایش گردش چربی در گردش خون می‌باشد (Reynolds et al., 2006). احتمالاً دلیل افزایش سطح گلوکز، کاهش ســطح بتاهیدروکســی بوتیرات و اســیدهای چرب غیراسـترفیه به‌علت افزایش اکسـیداسـیون اسـیدهای چرب با مکمل EPA و DHA که باعث حفظ سطح گلوکز و کاهش NEFA می‌گردد، می‌باشد (Capper et al., 2006). اکسیداسیون اسیدهای چرب با مکمل EPA و DHA افزایش می‌یابد، بنابراین گلوکز حفظ می‌شـود و مقدار بتاهیدروکسـی بوتیرات کاهش پیدا می‌کند (Coleman et al., 2018). لذا وزن تولد بیشـــتر که در تیمارهای دریافت‌کننده EPA و DHA مشاهده شده است را شاید بتوان به افزایش گلوکز و کاهش سـطح NEFA و بتاهیدروکسـی‌بوتیرات نسـبت داد، به‌طوری‌که این متابولیت‌های مادر بر رشد جنین بسیار موثر می‌باشد و اگرچه به لحاظ کمّی، اسـیدهای چرب فرار به‌عنوان مهم‌ترین سـوبسـتراها برای متابولیسـم اکسـیداتیو در نشـخوارکنندگان می‌باشـند، امّا هموسـتازی گلوکز به‌عنوان سوخت اصلی مورد استفاده در بافت عصبی می‌باشد. تصـور می‌شـود که تغییرات هورمونی در نشـخوارکنندگان در شـرایط مختلف متابولیکی به‌خاطر نیاز به حفظ هموسـتازی گلوکز باشـد، بر اساس یافته‌های پژوهشی NEFA و اجسام کتونی باعث می شوند تا گلوکز به مصرف سوخت و ساز بدن جنین و ساخت لاکتوز برای تولید شـیر برسـد (Herdt, 2000). عدم تفاوت معنی‌دار در تری‌گلیسـرید، کلسـترول، پروتئین کـل و اوره موافق بـا تحقیق اسـتفـاده از ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید در جیره اواخر آبستنی میش بود (Coleman et al., 2018) و مخالف با نتایج مصـرف روغن ماهی در جیره انتهای دوره آبسـتنی میش بود (Rosa-Velazquez, Jaborek, Pinos-Rodriguez, & Relling, 2021). نتایج این

بخش نشان داد که استفاده از مکمل EPA و DHA در جیره میش باعث افزایش سطح گلوکز خون در روز زایش شده که خود موجب کاهش معنی‌دار سطح بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیراستریفه گردید.

جدول ٤- تأثیر مکمل چربی بر متابولیت‌های پلاسما میش روز زایش

Table 4- Effect of fat supplementation on ewes Plasma metabolites on parturation

متابولیت‌های پلاسما Plasma metabolites	تیمارهای آزمایش ۲ Experimental treatments شاهد Control	 مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	 چربی کلسیمی Calcium fat	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	P_value
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) Glucose (mg/dl)	65.49[b]	71.09[a]	66.15[b]	0.8969	<0.0001
تری‌گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) Triglycerides (mg/dL)	32.76	32.32	33.12	0.6367	0.6176
کلسترول(میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	47.87	47.56	47.78	0.7264	0.9712
پروتین کل(گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dL)	8.05	7.85	7.70	0.1820	0.4142
اوره (میلی گرم بر دسی لیتر) Urea N (mg/dL)	16.20	16.08	17.33	0.3989	0.0599
اسیدهای چرب غیراستریفه (میلی مول بر لیتر) NEFA (Mmol/l)	0.45[a]	0.32[b]	0.44[a]	0.0986	<0.0001
بتاهیدروکسی بوتیرات (میلی مول بر لیتر) BHBA (Mmol/l)	0.42[a]	0.36[b]	0.41[a]	0.0638	<0.0001

[1] حرف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P<0.05$).

[2] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر ابستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference ($P\leq0.05$).

[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

مقدار تولید شیر طی سه ساعت بین تیمارها تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۰۰۱$) را نشان داد (جدول ۵). به‌طوری که تیمارهای دریافت‌کننده مکمل EPA و DHA نسبت به شاهد و مکمل چربی کلسیمی، شیر بیشتری تولید کردند. این تفاوت را می‌توان به بالا بودن مقدار گلوکز و وضعیت انرژی در این تیمار نسبت داد. این نتایج مطابق با نتایج تحقیقی که در هشت هفته انتهای آبستنی میش از روغن ماهی در جیره استفاده کرده بودند، می‌باشد (Capper et al., 2007). هرچند این نتیجه با تحقیقی که در دو ماه آخر آبستنی میش از مکمل EPA و DHA خالص استفاده کرده بودند، هم‌خوانی نداشت(Coleman et al., 2018). شیر تصحیح شده بر اساس چهار درصد چربی و ترکیبات شیر تفاوت معنی‌داری را در تیمارهای مختلف با یکدیگر نشان ندادند. این نتایج با نتیجه گزارش شده توسط کلمن و همکاران (۲۰۱۸) (Coleman et al., 2018)که در آن مصرف ۱۸ میلی گرم مکمل EPA,DHA به‌ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی میش در دوران آبستنی هیچ اثری بر فاکتورهای شیر نداشت، هم‌خوانی داشت (Coleman et al., 2018). در تحقیقی استفاده از روغن ماهی باعث کاهش چربی شیر(Mattos et al., 2004) و همچنین در مطالعه دیگر استفاده از جلبک دریایی باعث عدم تغییر در چربی شیر(Offer, Marsden, & Phipps, 2001) شده است. نتایج متفاوتی در مورد اثرات مکمل EPA,DHA بر چربی شیر گزارش شده است که شاید یکی از دلایل آن استفاده از ترکیبات متفاوت جیره (مقدار علوفه، ترکیبات کنسانتره) در مطالعات مختلف باشد که این موضوع خود بر مسیر بیوهیدروژناسیون چربی در شکمبه تأثیرگذار است(Bauman & Griinari, 2003). برخی محققان اظهار داشته‌اند که غلظت NEFA خون نشان‌دهنده میزان بسیج چربی از ذخایر بدنی می‌باشد، به‌طوری‌که کاهش نرخ بسیج اسیدهای چرب از بافت چربی ممکن است باعث افزایش مصرف خوراک، ثبات متابولیسم چربی در کبد و کاهش تولید اجسام کتونی در کبد شود که در نهایت، می‌تواند باعث افزایش تولید شیر گردد(McNAMARA, 1997).

جدول ۵- تأثیر مکمل چربی بر تولید و ترکیب شیر

Table 5- The effect of fat supplementation on milk production and composition

تولید شیر Milk production	تیمارهای آزمایش[۲] Experimental treatments شاهد Control	ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	چربی کلسیمی Calcium fat	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقدار احتمال P-Value
تولید شیر در سه ساعت (گرم) Milck production in three hours(gr)	78.50[b]	92.12[a]	77.37[b]	1.1482	<0.0001
چربی شیر Milk fat (%)	9.08	9.13	9.27	0.3336	0.9615
پروتئین شیر Milk protein,	3.78	3.50	3.60	0.2503	0.1000
مواد جامد بدون چربی Sold non fat	10.14	10.27	10.36	0.4218	0.8131
شیر تصیح شده بر اساس چهار درصد چربی FCM[3]	1.083	1.317	1.102	0.1319	0.6121

[۱] حرف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P<0.05$).

[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference ($P\leq0.05$).

[2] 1 -Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

[3] Fat–corrected Milk

اســـتفاده از مکمل EPA,DHA در جیره میش آبســـتن باعث افزایش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی شیر و آغوز شد (جدول ۶)، که این نتایج با مشاهدات افزودن مکمل EPA وDHA به جیره اواخر آبستنی گاو نیز مطابقت دارد (Puppel et al., 2016). ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اســید به‌عنوان آنتی‌اکســیدانت طبیعی هســتند که به‌طور مستقیم از خوراک وارد شیر می‌شوند (Puppel et al., 2016). اسیدهای چرب امگا سه اثر رادیکال‌های آزاد را تعدیل می‌کنند. به این صورت که ا سیدهای چرب امگا سه ممکن ا ست سطح کاتالاز را در پراکســی‌زوم‌ها و ســیتوپلاســم افزایش دهند و بنابراین، موجب بهبود دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد شوند (Garcia et al., 2014).

جدول ٦- تأثیر مکمل چربی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی ($umol\ Fe^{2+}/L$) شیر و آغوز

Table6- The effect of fat supplementation on the antioxidant activity ($umol\ Fe^{2+}/L$) of milk and colostrum

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی Antioxidant activity	تیمارهای آزمایش[۲] Experimental treatments شاهد Control	مکمل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید EPA and DHA	چربی کلسیمی Calcium fat	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	P_value
آغوز Colostrum	2057.63[b]	2389.38[a]	2012.92[b]	49.74	<0.0001
شیر Milk	2061.63[b]	2394.43[a]	2023.74[b]	57.04	0.0002

[۱] حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است ($P<0.05$).

[۲] ۱- شاهد ۲- تیمار دریافت‌کننده مکمل EPA,DHA دو ماه آخر آبستنی ۳- تیمار دریافت‌کننده مکمل چربی کلسیمی در دو ماه آخر آبستنی.

[1] Means with different superscript letters in each row indicate significant difference ($P\leq0.05$).

[2] 1- Control treatment 2- EPA, DHA supplemented group from last two months of pregnancy 3- Fat supplemented group in the last two months of pregnancy.

نتیجه‌گیری کلی

اســـتفاده از مکمل EPA,DHA در اواخر بارداری میش باعث تغییرات معنی‌دار در وزن تولد بره ها، تولید شـــیر و ســـطح تولید آنتی‌اکســیدانت در شــیر و آغوز شــد. اســتفاده از این مکمل تأثیری بر ترکیبات شیر در روز زایش نداشت، ولی باعث تغییر گلوکز، اسیدهای چرب غیراســتریفته و بتاهیدورکســی بوتیرات در متابولیت پلاســما روز زایش در میش شد.

References

1. Ayar, A., Sert, D., & Akın, N. (2009). The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia—Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment, 152*, 1-12 .
2. Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual review of nutrition, 23*(1), 203-227 .
3. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239*(1), 70-76. 10.1006/abio.1996.0292
4. Capper, J., Wilkinson, R., Mackenzie, A., & Sinclair, L. (2007). The effect of fish oil supplementation of pregnant and lactating ewes on milk production and lamb performance. *Animal, 1*(6), 889-898. DOI: 10.1017/S1751731107000067.
5. Capper, J. L., Wilkinson, R. G., Mackenzie, A. M., & Sinclair, L. A. (2006). Polyunsaturated fatty acid supplementation during pregnancy alters neonatal behavior in sheep. *The Journal of Nutrition, 136*(2), 397-403 .
6. Clarke, S. D. (2001). Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *The Journal of Nutrition, 131*(4), 1129-1132. 10.1152/ajpgi.2001.281.4.G865
7. Coleman, D., Rivera-Acevedo, K., & Relling, A. E. (2018). Prepartum fatty acid supplementation in sheep I. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid supplementation do not modify ewe and lamb metabolic status and performance through weaning. *Journal of Animal Science, 96*(1), 364-374. 10.1093/jas/skx012
8. Farina, G., Cattaneo, D., Lecchi, C., Invernizzi, G., Savoini, G., & Agazzi, A. (2015). A review on the role of EPA and DHA through goat nutrition to human health: could they be effective both to animals and humans? *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research, 2*(2), 1-5 .
9. Gallardo, B., Gómez-Cortés, P., Mantecón, A., Juárez, M., Manso, T., & De La Fuente, M. (2014). Effects of olive and fish oil Ca soaps in ewe diets on milk fat and muscle and subcutaneous tissue fatty-acid profiles of suckling lambs. *Animal, 8*(7), 1178-1190. 10.1017/S1751731114000238
10. Garcia, M., Greco, L., Favoreto, M., Marsola, R. S., Wang, D., Shin, J. h., Block, E., Thatcher, W. W., Santos, J. E. P., & Staples, C. R. (2014). Effect of supplementing essential fatty acids to pregnant nonlactating Holstein cows and their preweaned calves on calf performance, immune response, and health. *Journal of Dairy Science, 97*(8), 5045-5064. 10.3168/jds.2013-7086
11. Herdt, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 16*(2), 215-230. 10.15406/jdvar.2015.02.00027.
12. Kabaran, S., & Besler, H. T. (2015). Do fatty acids affect fetal programming? *Journal of Health, Population and Nutrition, 33*(1), 1-9. 10.1186/s41043-015-0018-9
13. Mattos, R., Staples, C., Arteche, A., Wiltbank, M., Diaz, F., Jenkins, T., & Thatcher, W. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2α, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science, 87*(4), 921-932. 10.1016/S0377-8401(03)00165-2
14. McNAMARA, J. P. (1997). Adipose tissue metabolism during lactation: where do we go from here? *Proceedings of the Nutrition Society, 56*(1A), 149-167 .
15. Nickles, K. R., Hamer, L., Coleman, D. N., & Relling, A. E. (2019). Supplementation with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in late gestation in ewes changes adipose tissue gene expression in the ewe and growth and plasma concentration of ghrelin in the offspring. *Journal of Animal Science, 97*(6), 2631-2643. 10.1093/jas/skz141
16. Offer, N., Marsden, M., & Phipps, R. (2001). Effect of oil supplementation of a diet containing a high concentration of starch on levels of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in bovine milk. *Animal Science, 73*(3), 533-540. 10.1017/S1357729800058501.
17. Palmquist, D., McClure, K., & Parker, C. (1977). Effect of protected saturated or polyunsaturated fat fed to pregnant and lactating ewes on milk composition, lamb plasma fatty acids and growth. *Journal of Animal Science, 45*(5), 1152-1159. 10.2527/jas1977.4551152x
18. Peñagaricano, F., Wang, X., Rosa, G. J., Radunz, A. E., & Khatib, H. (2014). Maternal nutrition induces gene

expression changes in fetal muscle and adipose tissues in sheep. *BMC genomics*, *15*, 1-13. 10.1186/1471-2164-15-1034

19. Puppel, K., Kuczyńska, B., Nałęcz-Tarwacka, T., Gołębiewski, M., Sakowski, T., Kapusta, A.,. Balcerak, M. (2016). Effect of supplementation of cows diet with linseed and fish oil and different variants of β-lactoglobulin on fatty acid composition and antioxidant capacity of milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(6), 2240-2248. 10.1002/jsfa.7341
20. Puppel, K., Nałęcz-Tarwacka, T., Kuczyńska, B., Gołębiewski, M., Kordyasz, M., & Grodzki, H. (2012). The age of cows as a factor shaping the antioxidant level during a nutritional experiment with fish oil and linseed supplementation for increasing the antioxidant value of milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(12), 2494-2499. 10.1002/jsfa.5658
21. Relling, A., & Reynolds, C. (2007). Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science, 90*(3), 1506-1515. 10.3168/jds.S0022-0302(07)71636-3
22. Relling, A. E., Loerch, S., & Reynolds, C. K. (2010). Plasma ghrelin and oxyntomodulin concentrations in lactating dairy cows receiving abomasal soybean oil, corn starch, and casein infusions. *Domestic Animal Endocrinology, 38*(4), 284-288. 10.1016/j.domaniend.2009.12.003
23. Reynolds, C., Cannon, V., & Loerch, S. (2006). Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology, 131*(3-4), 333-357. 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.015
24. Roque-Jiménez, J. A., Rosa-Velázquez, M., Pinos-Rodríguez, J. M., Vicente-Martínez, J. G., Mendoza-Cervantes, G., Flores-Primo, A., Relling, A. E. (2021). Role of long chain fatty acids in developmental programming in ruminants. *Animals*, *11*(3), 762. 10.3390/ani11030762
25. Rosa-Velazquez, M., Jaborek, J. R., Pinos-Rodriguez, J. M., & Relling, A. E. (2021). Maternal supply of fatty acids during late gestation on offspring's growth, metabolism, and carcass characteristics in sheep. *Animals*, *11*(3), 719. 10.3390/ani11030719
26. Tanghe, S., & De Smet, S. (2013). Does sow reproduction and piglet performance benefit from the addition of n-3 polyunsaturated fatty acids to the maternal diet? *The Veterinary Journal, 197*(3), 560-569. 10.1016/j.tvjl.2013.03.051